

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/014311

International filing date: 15 December 2004 (15.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 103 58 565.6
Filing date: 15 December 2003 (15.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 15 February 2005 (15.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

24.01.2005

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung****Aktenzeichen:**

103 58 565.6

Anmeldetag:

15. Dezember 2003

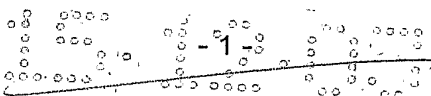
Anmelder/Inhaber:P.A.L.M. Microlaser Technologies AG,
82347 Bernried/DE**Bezeichnung:**Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer
biologischen Masse mittels Laserstrahlung herausge-
lösten Objekts**IPC:**

G 01 N, B 01 L

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 17. Januar 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Schäfer



Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels Laserstrahlung herausgelösten Objekts

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels Laserstrahlung herausgelösten und insbesondere
10 herauskatapultierten, das heißt unter Übertragung eines Impulses herausgelösten, biologischen Objekts.

In der WO 97/29355 A der Anmelderin wird ein neuartiges Verfahren zur Sortierung und zur Gewinnung von einzelnen biologischen Objekten, welche auf einem Träger angeordnet sind,
15 vorgeschlagen. Insbesondere wird in dieser Druckschrift vorgeschlagen, ein zuvor selektiertes biologisches Objekt von der umgebenden weiteren biologischen Masse durch einen Laserstrahl abzutrennen, so dass das selektierte biologische Objekt von der weiteren biologischen Masse frei präpariert ist. Das somit frei präparierte biologische Objekt wird
20 anschließend mit Hilfe eines Laserschusses von dem Träger zu einer Auffangvorrichtung katapultiert, wo es von einem Auffang- oder Aufnahmeelement, insbesondere in Form eines topfförmigen Behälters, aufgefangen und gehalten wird. Ebenso ist bei entsprechender Einstellung der Laserenergie und/oder des Laserfokus ein direktes Herauskatapultieren des selektierten biologischen Objekts aus der umgebenden biologischen Masse mit Hilfe lediglich eines einzigen Laserschusses möglich, so dass eine separate Laserbestrahlung zum
25 Herausschneiden des gewünschten biologischen Objekts nicht erforderlich ist.

Unter "biologischen Objekten" werden allgemein im Rahmen der vorliegenden Patentanmeldung vor allem lebende oder fixierte biologische Zellen oder Zellbestandteile
30 verstanden, die Bestandteil eines flüssigen oder festen biologischen Materials, wie beispielsweise eines Zellgewebes, eines Abstriches oder einer Zellkultur etc. sind.

Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand des Anwendungsbereichs der Bearbeitung biologischer Objekte beschrieben.

35 In Figur 3 ist der Aufbau eines Laser-Mikroskop-Systems dargestellt, wie es zur Verwendung mit einer zuvor beschriebenen Auffangvorrichtung bzw. einem zuvor beschriebenen Aufnahme- bzw. Aufnahmeelement eingesetzt werden kann. Das System ist modular aufgebaut

und kann somit an unterschiedliche experimentelle Anforderungen individuell angepasst werden.

Das in Figur 3 gezeigte System umfasst eine Laservorrichtung 17, in welcher eine Laserlichtquelle zur Erzeugung eines Laserlichtstrahls untergebracht ist. Des weiteren ist in der Laservorrichtung 17 eine Optik 15, 16 untergebracht, welche erforderlich ist, um den Laserstrahl in ein Mikroskop 13 einzukoppeln und den Laserfokus in der Objektebene auf den optischen Fokus des Mikroskops 13 abzustimmen. Im vorliegenden Fall kann es sich um einen gepulsten UV-Stickstofflaser handeln. Zur Steuerung der Laservorrichtung 17 kann ein Steuerpaneel vorgesehen sein, mit dessen Hilfe die Laserenergie und/oder der Laserfokus auf gewünschte Werte eingestellt werden kann. Zur präzisen Verstellung der Laserenergie ist ein Neutralfilter 15 senkrecht zum Laserstrahlpfad angeordnet, dessen Lage in Abhängigkeit von der am Steuerpaneel vorgenommenen Einstellung gesteuert werden kann, um somit die Laserenergie entsprechend einzustellen. Die Verstellung des Quarzfilters 5 kann dabei sowohl automatisch als auch manuell erfolgen. Neben der Einstellung der Laserenergie kann auch der Laserfokus unabhängig von dem Mikroskopfokus eingestellt werden, d.h. der Brennpunkt des Lasers kann in Z-Richtung relativ zur Objektebene des Mikroskops 13 verschoben werden. Auch der Laserfokus kann in Abhängigkeit von der am Steuerpaneel vorgenommenen Einstellung sowohl automatisch als auch manuell durch eine entsprechende Bewegung der Linsen 16 verstellt werden. Vorzugsweise kann über das erwähnte Steuerpaneel auch die Impulsrate des Lasers eingestellt werden, wobei zudem eine Anzeige über die am Steuerpaneel vorgenommenen Einstellung informiert.

Der Laserstrahl wird über mehrere beschichtete Strahlteiler in das Mikroskop 13 eingekoppelt und zu einem Objektiv 12 hin abgelenkt. Der über das Objektiv 12 emittierte Laserstrahl trifft schließlich auf einen motorisierten und computergesteuerten Mikroskop- oder Trägertisch 14, auf dem ein Objektträger mit einer zu bearbeitenden biologischen Masse angeordnet ist. Oberhalb des Trägertisches 14 befindet sich eine ebenfalls motorisierte und vorzugsweise computergesteuerte Auffangvorrichtung 19, welche ein oder mehrere Aufnahme- bzw. Auffangelemente oder Auffanggefäße 1 aufweist. Die Komponenten 14 und 19 ermöglichen eine exakte Objektpositionierung sowie ein präzises Auffangen von biologischen oder nichtbiologischen Objekten, welche mittels Laserbestrahlung von der auf dem Trägertisch 14 befindlichen Masse nach oben herauskatapultiert werden.

Bei dem Mikroskop 13 kann es sich um ein beliebig ausgestaltetes Mikroskop handeln. Insbesondere ist grundsätzlich die Verwendung sowohl eines (in Figur 3 gezeigten) inversen

Mikroskops als auch eines aufrechten Mikroskops oder eines Lasermikroskops denkbar. Das Mikroskop 13 ist mit einer Videokamera ausgestattet, welche den Bereich des Objektträgers bzw. Trägertisches 14 oberhalb des Objektivs 12 aufnimmt. Das Videosignal dieser Videokamera wird einem handelsüblichen Computer 18 zugeführt und dort einer derartigen
5 Bildverarbeitung unterzogen, dass das entsprechende Videobild in Echtzeit auf dem Bildschirm oder Monitor 8 des Computers 18 dargestellt werden kann.

In dem Computer 18 bzw. der darauf ablaufenden Software sind verschiedene Funktionen implementiert, welche sowohl eine rechnergestützte, d.h. automatische, Ansteuerung der
10 Laservorrichtung 17 als auch des Mikroskops 13 bzw. des Trägertisches 14 und der Auffangvorrichtung 19 ermöglichen, so dass beispielsweise der Laser automatisch aktiviert wird und die Auffangvorrichtung 19 sowie der Trägertisch 14 automatisch verfahren und verstellt werden können. Zur Einstellung bzw. Auswahl dieser Funktionen sind herkömmliche Eingabemittel, wie beispielsweise eine Tastatur 9, eine Computermouse 10 oder ein (nicht
15 gezeigter) Trackball, Joystick o. dgl. vorgesehen. Des weiteren ist der Laservorrichtung 17 ein Fußschalter 11 zugeordnet, durch dessen Betätigung der Laser manuell aktiviert werden kann.

Zum Schneiden der auf dem Objektträger bzw. dem Trägertisch 14 befindlichen biologischen
20 Masse kann der Benutzer rechnergestützt eine geeignete Schnittlinie vorgeben, die durch entsprechende Ansteuerung der Laservorrichtung 17 und des Trägertisches 14 in eine entsprechende Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem Trägertisch 14 umgesetzt wird, so dass bei gleichzeitiger Aktivierung der Laservorrichtung 17 die biologische Masse entsprechend der vorgegebenen Schnittlinie mittels des Laserstrahls
5 geschnitten wird.

Ein auf diese Weise aus der biologischen Masse ausgeschnittenes Objekt kann mit Hilfe einer weiteren Laserbestrahlung aus der biologischen Masse zu der darüber befindlichen Auffangvorrichtung 19 katapultiert werden. Zu diesem Zweck können die zu katapultierenden
30 Objekte rechnergestützt definiert bzw. markiert und anschließend der Trägertisch 14 automatisch derart verstellt werden, dass die zu katapultierenden Objekte nacheinander über den Laserstrahl bewegt und durch Setzen eines kurzen Laserschusses jeweils aus der Objektebene zu der Auffangvorrichtung 19 katapultiert werden. Neben dem zuvor beschriebenen automatischen Erzeugen eines Laserschusses kann ein einzelner
35 Laserimpuls oder Laserschuss auch durch einen kurzen Druck auf den in Figur 3 gezeigten Fußschalter 11 ausgelöst werden.

Wie bereits zuvor erwähnt worden ist, ist es grundsätzlich auch möglich, durch eine entsprechende Laserbestrahlung einzelne Objekte direkt aus der umgebenden biologischen Masse herauszukatapultieren, wenn die Laserenergie und/oder der Laserfokus entsprechend eingestellt werden, so dass ein vorhergehendes Herausschneiden dann nicht mehr nötig ist.

5

Die Auffangvorrichtung 19, welche sich bei dem in Figur 3 gezeigten inversen System oberhalb des Trägertisches 14 bzw. der Objektebene befindet, weist ein oder mehrere Aufnahme- bzw. Auffangelemente auf, welche ein von der Objektebene herauskatapultiertes Objekt auffangen und anschließend festhalten. Durch Fokussierung des Mikroskops 13 auf die Auffangvorrichtung 19 bzw. das jeweils im Lichtpfad des Mikroskops 13 befindliche Aufnahme- bzw. Auffangelement 1 kann anschließend über das Mikroskop 13 bzw. den Bildschirm 8 des Computers 18 das herauskatapultierte und von dem entsprechende Aufnahme- bzw. Auffangelement gehaltene biologische oder nichtbiologische Objekt betrachtet und untersucht werden, wobei zu diesem Zweck vorzugsweise eine Verstellmöglichkeit zur Verstellung der Auffangvorrichtung 19 parallel zur Objektebene vorgesehen ist, um das herauskatapultierte und in dem entsprechenden Aufnahme- bzw. Auffangelement 1 gehaltene Objekt mit dem Mikroskop 13 abfahren zu können.

10

15

20

Zu bemerken ist, dass der Abstand zwischen der Auffangvorrichtung 19 und dem Träger 14 in der Zeichnung nicht maßstabsgerecht ist. Es ist wünschenswert, hier einen möglichst kleinen Abstand vorzusehen, um ein präzises Auffangen der herauskatapultierten Objekte zu ermöglichen.

25

30

35

Um ein sicheres Haften des herauskatapultierten Objekts an einer Aufnahme- bzw. Aufnahmeelemente 1 sicherzustellen, ist es bekannt, eine derartige Aufnahme- bzw. Aufnahmeelemente mit einer Haftschrift zu versehen. Häufig stellt sich dann jedoch das Problem, die Objekte beschädigungsfrei zur Weiterverarbeitung von dieser Haftschrift zu lösen. Zudem können – beispielsweise bei Berührung des Aufnahmeelements durch einen Menschen – elektrostatische Kräfte auftreten, welche das Objekt anziehen, wodurch das Objekt nicht korrekt auf die Aufnahme- bzw. Aufnahmeelemente gelangt. Derartige elektrostatische Aufladungen können auch durch die Einwirkung des Laserstrahls erzeugt werden. Um dies zu vermeiden, wird herkömmlicherweise eine Flüssigkeit in die Aufnahmeeinheit gegeben, welche das Auftreten von elektrostatischen Kräften verhindern soll. Dies hat den Nachteil, dass diese Flüssigkeit vorher eingefüllt werden muss, was Zeit kostet und eine Gefahr der Kontamination mit sich bringt. Zudem kann eine derartige Flüssigkeit verdunsten, sie muss somit relativ kurz vor dem Katapultieren in die Aufnahmeeinheit gefüllt werden, was bei Vielfach-Aufnahmeeinheiten wie beispielsweise Mikrotiterplatten Schwierigkeiten bereiten kann.

Weiterhin besteht bei herkömmlichen Haftmitteln die Gefahr, dass es Schwierigkeiten geben kann, das Objekt zerstörungsfrei von dem Haftmittel zu lösen.

- 5 Zudem sind zur Weiterverarbeitung der Objekte, beispielsweise zur Gewinnung einer Zellkontur, eine Hinzugabe von beispielsweise Nährlösungen oder anderen Mitteln zur Weiterverarbeitung nötig. Hierbei besteht wiederum eine erhöhte Kontaminationsgefahr.

- 10 Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Aufnahmeeinheit bereitzustellen, welche zumindest einen Teil der dargestellten Probleme vermeidet. Insbesondere ist es wünschenswert, eine derartige Aufnahmeeinheit beispielsweise zur Serienverarbeitung von biologischem Material im Voraus herstellen zu können und die herauskatapultierten bzw. herausgelösten Objekte möglichst steril weiterverarbeiten zu können.

- 15 Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Aufnahmeelement gemäß Anspruch 1, 2, 4 oder 5. Die abhängigen Ansprüche definieren bevorzugte Ausführungsbeispiele des Aufnahmeelements, eine bevorzugte Verwendung des Aufnahmeelements sowie ein Verfahren zur Gewinnung eines biologischen Objekts unter Benutzung des Aufnahmeelements.

- 20 Erfindungsgemäß wird ein Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels Laserstrahlung herausgelösten Objekts bereitgestellt, wobei das Aufnahmeelement eine Aufnahmefläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist und wobei die Aufnahmefläche ein Haftmittel zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der Aufnahmefläche aufweist. Dieses Haftmittel ist erfindungsgemäß derart ausgestaltet, dass es das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem Aufnahmeelement unterdrückt. Gemäß einem weiteren Aspekt der Erfindung ist das Haftmittel ohne Beschädigung des Objekts auflösbar, beispielsweise durch Zufuhr von Wärme verflüssigbar. Zudem oder alternativ kann das Haftmittel derart ausgestaltet sein, dass es Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts wie beispielsweise eine Pufferlösung oder eine Nährlösung aufnehmen kann. Es ist selbstverständlich besonders bevorzugt, ein Haftmittel vorzusehen, welches zwei oder alle drei dieser Merkmale aufweist.
- 30

- 35 Des Weiteren stellt die Erfindung ein gattungsgemäßes Aufnahmeelement bereit, bei dem das Haftmittel ein Hydrogel ist. Dieses Hydrogel kann insbesondere die oben genannten Eigenschaften aufweisen. Allgemein versteht man unter einem Hydrogel ein Gel auf Basis hydrophiler, aber wasserunlöslicher Polymere, welche insbesondere als dreidimensionales

6-0000

Netzwerk vorliegen. Die Polymere können dabei sowohl natürliche Polymere als auch synthetische Polymere sein. Ein mögliches derartiges Hydrogel ist Agarose.

Bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel umfasst das Aufnahmeelement einen Deckelabschnitt zum Abdecken eines Behälters und einen in dem Deckelabschnitt angebrachten Sockelabschnitt mit der Aufnahme­fläche auf einer dem Deckelabschnitt abgewandten Seite. Der Sockelabschnitt weist dabei bevorzugt eine Höhe auf, welche so gewählt ist, dass der Abstand der Aufnahme­fläche zu einem Boden des Behälters in einem Zustand, in dem der Deckelabschnitt den Behälter abdeckt, kleiner als 10 mm und bevorzugt zwischen 1 und 3 mm ist. Wird als Behälter ein für Laserstrahlung durchlässiger Behälter verwendet, insbesondere eine Petrischale mit Doppelmembranboden, kann dieser Behälter dann direkt als Träger für die biologische Masse verwendet werden und das Objekt einfach auf die Aufnahme­fläche katapultiert werden, wenn der Deckelabschnitt den Behälter abdeckt.

Das Aufnahmeelement kann auch in Form einer Mehrfachkulturschale oder einer Mikrotiterplatte mit jeweils einer Vielzahl von Aufnahmevertiefungen ausgebildet sein, wobei die Aufnahmevertiefungen bis zu einer bestimmten Höhe mit dem Hydrogel gefüllt sind.

Die Erfindung wird im Folgenden unter Bezugnahme auf die beigefügte Zeichnung anhand bevorzugter Ausführungsbeispiele näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 ein erstes Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,

Fig. 2 ein zweites Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung, und

Fig. 3 ein Lasersystem, bei dem die vorliegende Erfindung Verwendung finden kann.

Fig. 1 zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel der Erfindung. Ein erfindungsgemäßes Aufnahmeelement 1 umfasst dabei eine Abdeckung oder einen Deckel 2 einer Zellkulturschale 5, beispielsweise einer Petrischale. Auf einer Innenseite des Deckels 1 ist ein Sockel oder Stützelement 3 angebracht. Das Stützelement 3 kann dabei beispielsweise kreisrund sein und aus Silikon oder Acrylglas gefertigt sein, es sind jedoch auch andere Formen und andere geeignete Materialien möglich. Für viele Anwendungen ist es wünschenswert, dass dieses Stützelement 3 autoklavierbar ist, um das Aufnahmeelement sterilisieren zu können. Dafür wird das Stützelement 3 sterilisiert und die Agaroseschicht 4 durch Gießen von hochprozentiger, sterilisierter, gefilterter Agarose in eine entsprechende

Schablone aufgebracht. Das Stützelement 3 ist mit einem nichttoxischen Material an der Innenfläche des Deckels 2 angebracht, wobei diese Verbindung reversibel ist, um das Stützelement 3 auch bei Bedarf wieder entfernen zu können.

- 5 Auf einer unteren Seite des Stützelements 3 befindet sich eine Aufnahme­fläche für insbesondere biologische Objekte, welcher mit einer Agaroseschicht 4 bevorzugt aus hochwertiger LE-Agarose bedeckt ist. Die Agaroseschicht dient dabei als Haftmittel, um die Objekte an der Aufnahme­fläche festzuhalten. Prinzipiell kann anstelle der Agaroseschicht 4 auch ein anderes geeignetes Hydrogel oder ein anderes Haftmittel mit den gewünschten
- 10 Eigenschaften verwendet werden.

Für den in der Beschreibungseinleitung ausführlich unter Bezugnahme auf Fig. 3 beschriebenen Katapultvorgang wird der Deckel 2 auf eine passende Petrischale 5 gesetzt. Die Petrischale 5 weist bevorzugt statt eines herkömmlichen Glasbodens eine

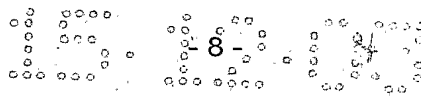
15 Doppelmembran 5a als Bodenelement auf, welche eine Kombination aus einer lichtdurchlässigen und einer UV-absorbierenden Folie darstellt. Eine derartige Petrischale ist in der DE 100 39 979 A1 ausführlich beschrieben. Diese Petrischale 5 enthält beispielsweise auf der Doppelmembran 5a eine Zellkultur 7. Im aufgesetzten Zustand ist der Abstand der Aufnahme­fläche bzw. des Hydrogels 4 von der Membran 5a kleiner als 10 mm, bevorzugt im

20 Bereich von 1 bis 3 mm. Das so geschlossene Gefäß wird dann als Träger 14 in die Vorrichtung von Fig. 3 eingesetzt. Mit einem Laserstrahl wird ein gewünschter Teil der Zellkultur 7 ausgeschnitten und mittels eines Laserschusses auf das Hydrogel 4 katapultiert. Das Aufnahmeelement 1 ersetzt dabei gleichzeitig eine in Fig. 3 dargestellte Auffangeinrichtung 19.

5 Zur weiteren Verarbeitung wird das Aufnahmeelement 1 dann beispielsweise auf ein Zellkulturgefäß oder auch auf eine weitere Petrischale 5 mit Membran 5a aufgesetzt. Die auf das Hydrogel 4 katapultierten Zellen können durch leichte Bewegungen oder durch Erwärmung der Agaroseschicht 4 abgelöst werden. Dabei kann die weitere Petrischale 5

30 insbesondere mit einer Zellkulturflüssigkeit gefüllt sein, in welche das Hydrogel 4 eintaucht. Alternativ kann die Hydrogelschicht auch durch Zugabe von Agarase, einem Enzym, welches Agarose auflöst, vollständig aufgelöst werden. Danach kann das Aufnahmeelement 1 gegen einen herkömmlichen Deckel ausgetauscht werden und – gegebenenfalls nach einer

35 Sterilisation – wiederverwendet werden. Werden die katapultierten Zellen so in eine weitere Petrischale 5 mit Membran 5a übertragen, kann nach Kultivierung in dieser Petrischale der Vorgang mit den dort entstandenen Zellkulturen wiederholt werden.



Die Verwendung des Hydrogels, in diesem Fall der Agaroseschicht 4, hat den Vorteil, dass beispielsweise durch die Lasereinstrahlung oder durch eine Berührung hervorgerufene elektrostatische Kräfte nicht dazu führen, dass die herauskatapultierten Zellen anstelle auf der Hydrogelschicht 4 an dem Deckel 2 hängen bleiben.

5

Ein Vorteil bei Verwendung einer derartigen Aufnahmeeinrichtung ist es auch, dass die Agaroseschicht 4 eine bessere Visualisierung der Zellkultur 7 sowie der herauskatapultierten Zellen mit einem Mikroskop ermöglicht, da der Kontrast verbessert wird.

10

In Fig. 2 ist ein zweites Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung gezeigt. Dabei handelt es sich um ein Aufnahmeelement 1 in Form von so genannten Mehrfachkulturschalen, das heißt, mehrere zusammenhängende schalenartige Vertiefungen 20. In dem dargestellten Beispiel sind drei derartige Schalen 20 dargestellt, welche mit Stegen 6 verbunden sind. Die Schalen können mit einem (nicht dargestellten) Deckel abgedeckt werden. Bei handelsüblichen Mehrfachkulturschalen bzw. Mehrfachkulturplatten sind üblicherweise wesentlich mehr dieser Schalen 20 vorhanden, beispielsweise vier Reihen mit je sechs derartigen Schalen 20. Die Schalen sind wiederum mit Agarose 4 oder einem anderen Hydrogel gefüllt. Bei einem Katapultvorgang wie oben beschrieben wird diese Anordnung entsprechend mit der Öffnung nach unten in die Aufnahmeeinrichtung 19 des in Fig. 3 dargestellten Mikroskop angebracht, und von einem Träger 14 werden die gewünschten Zellen auf die Agaroseschichten 4 katapultiert. Die Höhe der Befüllung mit Agarose wird dabei derart gewählt, dass ein für das Katapultieren günstiger Abstand zu dem Träger 14 vorliegt, bevorzugt zwischen 1 und 3 mm.

15

20

5

Nach dem Katapultieren kann die Agarose 4 wiederum durch Zugabe von Agarose verflüssigt werden, so dass eine unmittelbare Weiterverwendung vorgenommen werden kann. Des Weiteren können in den Agaroseschichten 4 verschiedene Zusätze wie z. B. Zellkulturmedien oder Pufferlösungen eingebracht sein. Für eine folgende Kultivierung der katapultierten Zellen ist daher ein zusätzliches Einbringen dieser Mittel nicht mehr erforderlich, da diese nach dem Auflösen bzw. Verflüssigen der Agarose freigesetzt werden. Es wird daher ein Arbeitsschritt eingespart, auch die damit verbundene Kontaminierungsgefahr wird vermieden.

30

35

Anstelle der Mehrfachkulturschalen können auch so genannte Mikrotiterplatten bzw. 96-well-Mikrotiterplatten ähnlich wie in Fig. 2 mit feinporiger, feingeliegender Agarose befüllt werden, so dass wiederum ein optimaler Abstand für einen Katapultierprozess vorliegt. Auch hier können wieder für die Weiterverarbeitung der katapultierten Zellen gewünschte Gemische

5. MALDI (Polymerasekettenreaktion, Polymerase Chain Reaction bzw. matrixassistierte Laserdesorption/Ionisation) das volle Volumen der jeweiligen Vertiefungen zur Verfügung. Bei derartigen Anwendungen kann anstelle der Auflösung der Agarose mittels Agarase die Agarase auch durch zyklisches Erhitzen der Probe beispielsweise während des PCR-Vorgangs verflüssigt werden.

Selbstverständlich sind die hier dargestellten Ausführungsbeispiele nicht auf Agarose als Hydrogel beschränkt, es könne auch andere Hydrogele mit den gewünschten Eigenschaften verwendet werden. Möglich wären hier beispielsweise ein Hydrogel auf Basis von Collagen, Polyacrylamid oder ähnlichen Substanzen. Auch andere Formen der Aufnahmeeinheiten sind je nach gewünschter Anwendung möglich.

PATENTANSPRÜCHE

- 5 1. Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,
wobei das Aufnahmeelement (1) eine Aufnahmefläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,
wobei die Aufnahmefläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des
10 jeweiligen Objekts an der Aufnahmefläche aufweist,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Haftmittel (4) derart ausgestaltet ist, dass es das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem Aufnahmeelement (1) unterdrückt.
- 15 2. Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,
wobei das Aufnahmeelement (1) eine Aufnahmefläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,
wobei die Aufnahmefläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des
20 jeweiligen Objekts an der Aufnahmefläche aufweist,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Haftmittel (4) ohne Beschädigung des Objekts auflösbar ist.
- 5 3. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Haftmittel (4) zum Auflösen durch Zufuhr von Wärme verflüssigbar ist.
- 30 4. Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,
wobei das Aufnahmeelement (1) eine Aufnahmefläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,
wobei die Aufnahmefläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des
jeweiligen Objekts an der Aufnahmefläche aufweist,
dadurch gekennzeichnet,
35 dass das Haftmittel (4) derart ausgestaltet ist, dass es Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts aufnehmen kann.

5. Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse (7) mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts,
wobei das Aufnahmeelement (1) eine Aufnahme­fläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist,
5 wobei die Aufnahme­fläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an der Aufnahme­fläche aufweist,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Haftmittel ein Hydrogel (4) ist.
- 10 6. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 5,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Hydrogel (4) derart ausgestaltet ist, dass es das Auftreten von auf das Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem Aufnahmeelement (1) unterdrückt.
- 15 7. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 5 oder 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Hydrogel (4) ohne Beschädigung des Objekts auflösbar ist.
- 20 8. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Hydrogel (4) durch Zugabe eines Enzyms auflösbar ist.
- 5 9. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 7 oder 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Hydrogel (4) durch Zufuhr von Wärme zum Auflösen verflüssigbar ist.
10. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 5 bis 9,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Hydrogel (4) derart ausgestaltet ist,
30 dass es Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts aufnehmen kann.
11. Aufnahmeelement nach Anspruch 10,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Hydrogel (4) die Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts umfasst.
- 35 12. Aufnahmeelement nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet,

dass die Mittel zur weiteren Verarbeitung des Objekts Puffermittel, ein Zellkulturmedium und/oder einen Enzym-Voransatz umfassen.

13. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 5 bis 12,

5

dadurch gekennzeichnet,

dass das Hydrogel (4) Agarose umfasst.

14. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 5 bis 13,

10

dadurch gekennzeichnet,

dass das Hydrogel (4) ein Hydrogel auf Basis von Collagen oder Polyacrylamid umfasst.

15. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 14,

15

dadurch gekennzeichnet,

dass das Aufnahmeelement (1) einen Deckelabschnitt (2) zum Abdecken eines Behälters (5) und ein in dem Deckelabschnitt (2) angebrachtes Stützelement (3) mit der Aufnahme­fläche auf einer dem Deckelabschnitt (2) abgewandten Seite aufweist.

16. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 15,

20

dadurch gekennzeichnet,

dass das Stützelement (3) aus Silikon oder Acrylglas gefertigt ist.

17. Aufnahmeelement (1) nach Anspruch 15 oder 16,

dadurch gekennzeichnet,

dass das Stützelement (3) eine Höhe aufweist, welche so gewählt ist, dass der Abstand des Hydrogels (4) zu einem Boden (5a) des Behälters (5) in einem Zustand, in dem der Deckelabschnitt (2) den Behälter (5) abdeckt, kleiner als 10 mm ist.

18. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 15 bis 17,

30

dadurch gekennzeichnet,

dass das Stützelement (3) abnehmbar an dem Deckelabschnitt (2) angebracht ist.

19. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 14,

35

dadurch gekennzeichnet,

dass das Aufnahmeelement in Form einer Mehrfachkulturschale (1) ausgestaltet ist.

20. Aufnahmeelement (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 14,

dadurch gekennzeichnet,

dass das Aufnahmeelement in Form einer Mikrotiterplatte ausgestaltet ist.

21. Aufnahmeelement (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

5 dass Aufnahmevertiefungen (20) des Aufnahmeelements (1) bis zu einer vorgegebenen Höhe mit dem Haftmittel (4) gefüllt sind.

22. Verwendung eines Aufnahmeelementes (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 21 zum Auffangen eines biologischen Objekts, welches mit Hilfe eines Laserstrahls aus einer biologischen Masse herausgelöst wurde.

23. Verwendung nach Anspruch 22,

dadurch gekennzeichnet,

15 dass das Herauslösen des Objekts aus der biologischen Masse (7) durch einen von einem Laserschuss ausgelösten Transportvorgang vorgenommen wird.

24. Verfahren zur Gewinnung eines biologischen Objekts,

dadurch gekennzeichnet,

20 dass das Objekt mit einem Laserschuss aus einer biologischen Masse (7) herausgelöst und zu einem Aufnahmeelement (1) transportiert wird,

dass das Objekt auf einer Aufnahmefläche des Aufnahmeelements (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 21 aufgenommen wird, und

dass das Haftmittel (4) des Aufnahmeelements (1) aufgelöst wird.

ZUSAMMENFASSUNG

5 **Aufnahmeelement zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse mittels Laserstrahlung herausgelösten Objekts**

10 Es wird ein Aufnahmeelement (1) zum Aufnehmen eines aus einer biologischen Masse
mittels Laserstrahlung herausgelösten biologischen Objekts bereitgestellt, wobei das
Aufnahmeelement eine Aufnahme­fläche zum Aufnehmen des Objekts aufweist, wobei die
Aufnahme­fläche ein Haftmittel (4) zur Verbesserung der Haftung des jeweiligen Objekts an
der Aufnahme­fläche aufweist. Das Haftmittel (4) unterdrückt das Auftreten von auf das
15 Objekt wirkenden elektrostatischen Kräften in dem Aufnahmeelement (1), ist ohne
Beschädigung des Objekts auflösbar und/oder kann Mittel zur weiteren Verarbeitung des
Objekts aufnehmen. Als Haftmittel (4) eignet sich dabei insbesondere ein Hydrogel wie
beispielsweise Agarose. Ein derartiges Aufnahmeelement (1) eignet sich insbesondere zum
Auffangen von aus der biologischen Masse (7) herauskatapultierten Objekten.

20 (Fig. 1)

SECRET

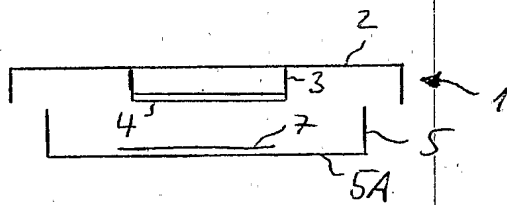


Fig. 1

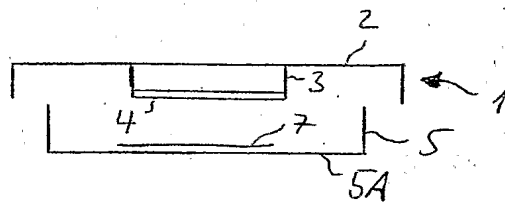


Fig. 1

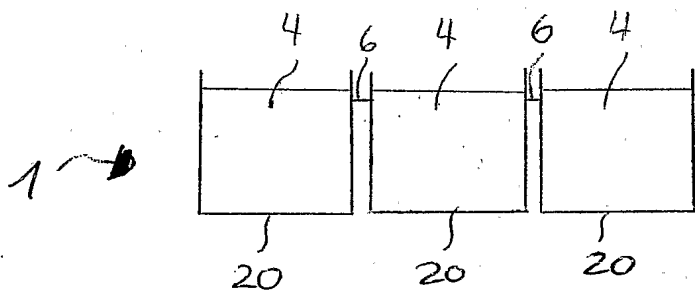


Fig. 2

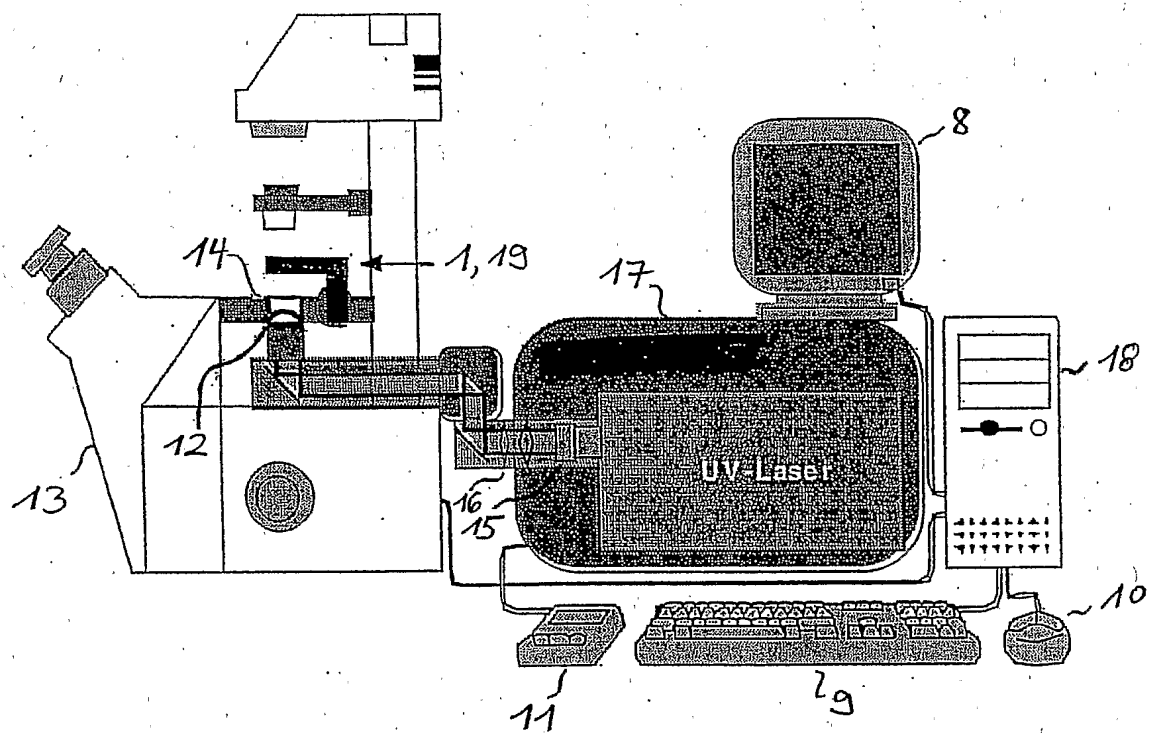


FIG. 3